Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Tübingen
Ehem. Direktor: Professor Dr. med. W. Dick

Beitrag zur sogenannten antithromboplastischen Wirkung des Proteinaseninhibitors Trasylol

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Gerda Jehner, geb. Hinkel
aus Bad Vilbel

1970

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Tübingen
Ehem. Direktor: Professor Dr. med. W. Dick

Beitrag zur sogenannten antithromboplastischen Wirkung des Proteinaseninhibitors Trasylol

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Gerda Jehner, geb. Hinkel
aus Bad Vilbel

1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. J. Hirschmann

1. Berichterstatter: Professor Dr. P. Matis
2. Berichterstatter: Professor Dr. L. Koslowski

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG • Tübingen

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I Einleitung	1
II Eigene Untersuchungen	3
A Versuchsanordnung und Methodik	3
1. In-vitro-Untersuchungen	3
a) Allgemeines zur Versuchsanordnung	
b) Herstellung der Reagenzien	
c) Durchführung des Thrombokinasebildungstests	
d) Auswertung	
2. In-vivo-Untersuchungen	8
a) Allgemeines zur Versuchsanordnung	
b) Durchführung des Thrombokinasebildungstests	
c) Auswertung	
B Ergebnisse	11
1. Beeinflussung der Blutthrombokinasebildung durch Trasylol in vitro	11
2. Beeinflussung der Blutthrombokinasebildung durch Trasylol in vivo	15
C Diskussion	17
III Zusammenfassung	21
IV Literatur	23

I EINLEITUNG

Die an der Chirurgischen Klinik Tübingen mit dem Proteinaseninhibitor Trasylol durchgeführten Untersuchungen (1, 2, 3) hatten die Vermutung zum Ausgangspunkt, daß sich aufgrund der sog. antithromboplastischen Wirkung dieses Proteinaseninhibitors (4, 5, 6) die Thromboemboliefrequenz beeinflussen lassen müsste.

In diesem Zusammenhang musste in Ergänzung zahlreicher bereits vorliegender Untersuchungen (7, 8, 9, 10) der Beeinflussung verschiedener für die Thromboembolie relevanter Parameter nachgegangen werden. Mir war die Aufgabe gestellt worden, den Einfluß von Trasylol auf die Bildung bzw. Hemmung der sog. Blutthrombokinase in vitro und in vivo zu untersuchen.

II EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A Versuchsanordnung und Methodik (11, 12)

1. In-vitro-Untersuchungen

a) Allgemeines zur Versuchsanordnung

Die Frage einer etwaigen Beeinflussung der Blutthrombokinasebildung wurde nach der Methode von Duckert und Mitarb. (13) untersucht. - Der Einfluß von Trasylol auf die Blutthrombokinasebildung wurde nach wechselseitiger Inkubation der Reaktionsteilnehmer (Plasma, Serum) mit verschiedenen Trasylolkonzentrationen geprüft.

b) Herstellung der Reagenzien

Blutentnahme: Bei 10 klinisch gesunden Probanden wurde Blut wie folgt entnommen:

aa) Zur Herstellung von $BaSO_4$-Plasma je 10 ml Oxalatblut (1:10) in silikoniertem System, anschließend 20 Minuten zentrifugieren bei 4° C und 3.000 UPM. Je 10 ml Plasma werden mit 300 ml $BaSO_4$ versetzt und 5 Minuten leicht geschüttelt, anschließend 15 Minuten bei 3.000 UPM zentrifugiert. Das überstehende Plasma wird in ein zweites Reagenzglas abgegossen und in der angegebenen Weise noch ein zweites Mal verfahren. Die Thromboplastinzeit dieses Plasmas darf nicht unter 30 Minuten liegen.

bb) Zur Gewinnung von Serum werden je 15 ml Nativblut 3 Stunden bei 37° C gelagert; anschließend Abzentrifugieren des Serums.

cc) Zur Herstellung von Ca-freiem Substratplasma werden je 20 ml Nativblut über einen Kationenaustauscher (Dowex 50) in einem an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossenen Behältnis aufgefangen und wie unter aa) zentrifugiert.

dd) Anstelle der Plättchensuspension kam Chloroformhirnextrakt (CHE^{+}) zur Verwendung.

Abfüllung der so gewonnenen Mischplasmen (aa, cc), des Mischserums (bb) sowie des Chloroformhirnextraktes zu Portionen von je 1 und 2 ml und Lagerung bei -18° C. Die unter aa - cc angeführten Reagenzien stammen von denselben Probanden. Die innerhalb von 4 Wochen durchgeführten Untersuchungen konnten somit an bzw. in einem autologen System erfolgen. Diese Reagenzien (aa - dd) bezeichnen wir als Standardreagenzien.

ee) Zur Inkubation wurde Trasylol K (1 ml enthaltend 20.000 KIE Trasylol)$^{++}$ im Verhältnis 1:4, 1:8 und 1:16 mit Veronal-Acetat-Puffer pH 7,3 verdünnt.

ff) Weitere Reagenzien: NaCl-Lösung 0,9 %, Natriumoxalat 1,34 %, Calciumchlorid $^{m}/40$, Dowex 50.

c) Durchführung des Thrombokinasebildungstests (Schema 1 in Abb. 1):

aa) $BaSO_4$-Plasma, Serum, Substratplasma sowie Chloroformhirnextrakt (CHE) wurden bei Zimmertemperatur 20 Minuten stehen gelassen, in dieser Zeit aufgetaut und anschließend wie folgt mit Puffer verdünnt: $BaSO_4$-Plasma 1:20, Serum 1:10.
CHE und Substratplasma blieben unverdünnt.

bb) Das Reaktionsgemisch^{+++} wird im Wasserbad bei 37° C in folgender Weise aufgebaut:

+ Herrn PD Dr. Duckert danke ich für die Überlassung ausreichender Mengen von Chloroformhirnextrakt.

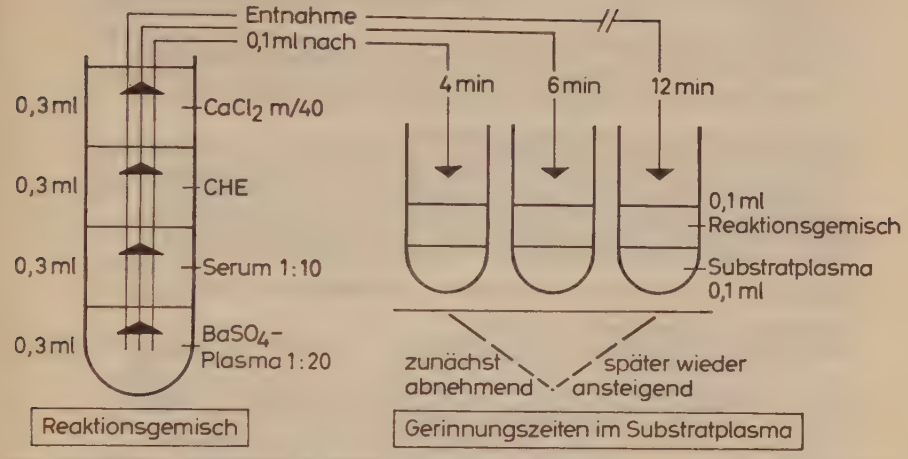
++ Trasylol K-Ampullen zu 5 ml à 20.000 KIE Trasylol/ml wurden in dankenswerter Weise von den Farbenfabriken Bayer, Klin.Forschung Abt. 4, Elberfeld, zur Verfügung gestellt.

+++ Da im Rahmen dieser Darstellung mit dem für diesen Ansatz allgemein üblichen Begriff Inkubationsgemisch der Trasylol-Plasma- bzw. Trasylol-Serum-Ansatz bezeichnet wird, haben wir hier die Bezeichnung Reaktionsgemisch gewählt.

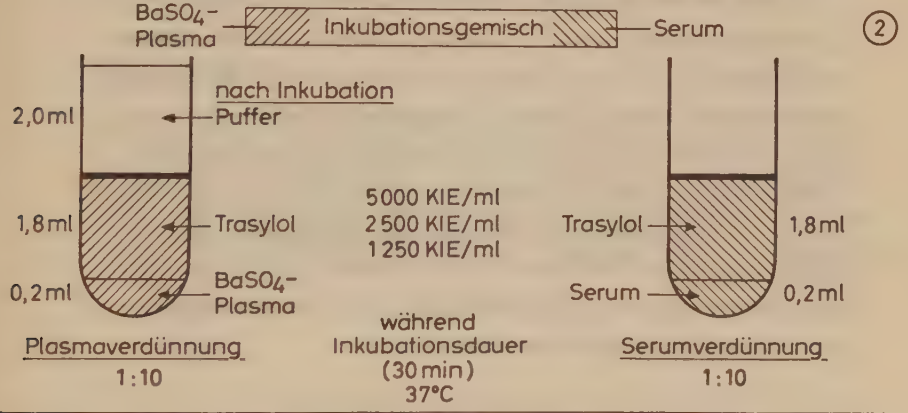
Thrombokinasebildungstest

①

Reaktionsdauer 4, 6, 8, 10, 12, 14 min



②



③

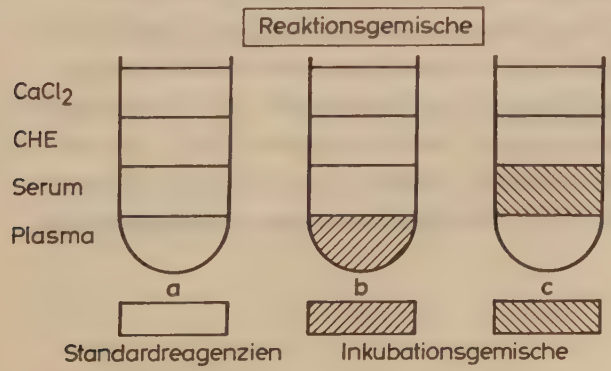


Abb. 1: Schema 1 - 3

0,3 ml $BaSO_4$-Plasma 1:20 + 0,3 ml Serum 1:10 + 0,3 ml CHE + 0,3 ml $CaCl_2$ $^m/_{40}$.

Bei Zugabe des Calciums, d.h. mit Einsetzen der Blutthrombokinasebildung in diesem Gemisch, wird die Stoppuhr in Gang gesetzt und die jeweils entstandene Aktivität am Substratplasma getestet:

Nach 4, 6, 8, 10, 12 und ggf. 14 Minuten (bis zum Wiederanstieg der zunächst kürzer werdenden Reaktionszeiten) werden 0,1 ml des Reaktionsgemisches in vorbereitete Röhrchen, welche jeweils im Wasserbad auf 37° C vorgewärmt, 0,1 ml Substratplasma enthalten, eingebracht und die Gerinnungszeiten in diesem System ermittelt.

cc) Die Herstellung des Inkubationsgemisches (Schema 2 in Abb. 1) erfolgte in der Weise, daß 0,2 ml $BaSO_4$-Plasma bzw. 0,2 ml Serum jeweils mit 1,8 ml einer bestimmten Trasylolkonzentration (5.000 KIE, 2.500 KIE und 1.250 KIE/ml) versetzt wurde. Dieses Inkubationsgemisch blieb bei konstanter Temperatur von 37° C für 30 Minuten im Wasserbad und wurde dann dem Reaktionsgemisch (Schema 3 in Abb. 1) zupipettiert. Dem Plasmaansatz wurden kurz vorher weitere 2 ml Pufferlösung zugefügt, so daß schließlich die für den Test vorgeschriebene Plasmaverdünnung von 1:20 und eine Serumverdünnung von 1:10 resultierten. Für die Dauer der Inkubation war die Trasylolkonzentration im Serum und Plasmainkubationsgemisch gleich. In den Leer-(=Kontroll)Ansätzen wurde die Trasylollösung durch 1,8 ml Pufferlösung ersetzt, im übrigen jedoch analog verfahren.

Entsprechend dem Ansatz betrug während der 30 Minuten Inkubation die Trasylolkonzentration im Inkubationsgemisch $BaSO_4$-Plasma-Trasylol 4.500, 2.250 und 1.125 KIE/ml. Nach Zupipettieren weiterer 2 ml Pufferlösung, um unmittelbar vor Einbringen in das Reaktionsgemisch eine Plasmaverdünnung von 1:20 zu erzielen, betrug die Trasylolkonzentration 2.250, 1.125 und 562 KIE/ml. Im Reaktionsgemisch schließlich jeweils 1/4 dieser Konzentration, nämlich 562, 281 und 140 KIE/ml. Im Falle des Inkubationsgemisches

Serum-Trasylol unterblieb eine weitere Verdünnung (erforderliche Serumverdünnung nur 1:10), so daß die Trasylolkonzentration im Reaktionsgemisch doppelt so hoch, nämlich 1.125, 562 und 281 KIE/ml, lag.

Spezielle Inkubationseffekte wären im Prinzip auch hier noch möglich, doch dürfte dies allenfalls für die Ausgangsverdünnung von 5.000 KIE Trasylol/ml in Betracht kommen und auch nur für die nach den ersten Minuten entnommenen Proben.

Im Endansatz zur Bestimmung der Gerinnungszeit im Substratplasma betrug die Trasylolkonzentration nur noch die Hälfte der zuletzt angegebenen Werte, nämlich 281, 140 und 70 KIE/ml im Falle der Plasma-Trasylolinkubation, im Falle der Serum-Trasylolinkubation 562, 281 und 140 KIE/ml.

d) Auswertung

Die Meßwerte auf den einzelnen Kurven stellen Mittelwerte aus je 6 Bestimmungen mit 3 Trasylolkonzentrationen und je 36 Bestimmungen in den korrespondierenden Leeransätzen dar. Die Signifikanzberechnung erfolgte wie auf S. 9 angegeben. Signifikante Differenzen sind bei den jeweiligen Abbildungen ausgewiesen.

2. In-vivo-Untersuchungen

a) Allgemeines zur Versuchsanordnung

Die Prüfung der Beeinflussung der Blutthrombokinasebildung durch Trasylol in vivo wurde an zwei Gruppen von insgesamt 24 Patienten durchgeführt.

Gruppe I umfasste 12 Patienten, die kein Trasylol erhalten hatten (s.u.)

In Gruppe II erhielten 6 Patienten Trasylol i.v.

am Operationstag	3 + 2 + 2 + 2mal 100.000 KIE
am 1. postoperativen Tag	2 + 2 + 2 + 2mal 100.000 KIE
am 2. postoperativen Tag	1 + 1 + 1 + 1mal 100.000 KIE

In Gruppe III erhielten 6 Patienten Trasylol i.v.

am Operationstag	6 + 5 + 5 + 5mal 100.000 KIE
am 1. postoperativen Tag	5 + 5 + 5 + 5mal 100.000 KIE
am 2. postoperativen Tag	5 + 5 + 5 + 5mal 100.000 KIE
am 3. postoperativen Tag	5 + 5 + 5 + 5mal 100.000 KIE

Gruppe I wurde nachträglich - um eine gewisse Vergleichbarkeit zu ermöglichen - in der Weise gebildet, daß einem jeden Patienten der Gruppe II und III ein hinsichtlich Alter, Geschlecht, Grundleiden vergleichbarer Patient zugeordnet werden konnte (Paarbildung). Dies war bei der geringen Anzahl von Patienten ohne weiteres innerhalb kurzer Zeit möglich.

b) Durchführung des Thrombokinasebildungstestes

Blutentnahme (Oxalatblut 1:10) zur Bestimmung des Thrombokinasebildungstestes erfolgte mittels Einmalkanülen und -spritzen zu folgenden Zeitpunkten:

präoperativ am Tag vor der Operation sowie
postoperativ am 3. Tag in den Gruppen II und III eine Stunde nach der dritten Injektion, in allen Gruppen einheitlich um 16 Uhr.

Der Thrombokinasebildungstest (s. S. 4) wurde mit den vorhandenen trasylolfreien Standardreagenzien (s. S. 4) durchgeführt, wobei das Reaktionsgemisch mit Patienten($BaSO_4$)Plasma bzw. -Serum angesetzt wurde. Die Bestimmung erfolgte unmittelbar nach Herstellung von $BaSO_4$-Plasma bzw. Serum des Patienten mit einer $BaSO_4$-Plasmaverdünnung von 1:20 (entsprechend 100 % Aktivität) und einer $BaSO_4$-Plasmaverdünnung von 1:80 (entsprechend 25 % Aktivität), sowie einer Serumverdünnung von 1:10.

c) Auswertung

Die Meßreihen wurden mit Hilfe des t-Testes nach Student auf Übereinstimmung miteinander geprüft. Bei einem p unter 0,05 (5 %) wird die Übereinstimmung verworfen - die Annahme ist begründet, daß sich beide Meßreihen signifikant voneinander unterscheiden[+].

[+] Für Beratung und Anleitung danke ich Herrn Priv.-Doz. Dr. P. Pauschinger, Tübingen

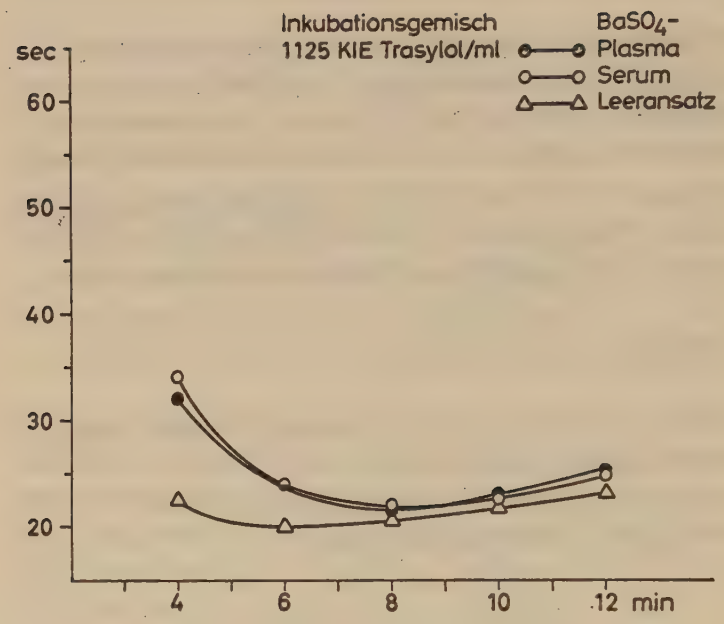


Abb. 2: Erläuterung siehe Text

Signifikante Differenzen: Leeransatz - Serum 4'
Leeransatz - Plasma 4'

B Ergebnisse

1. Beeinflussung der Blutthrombokinasebildung durch Trasylol in vitro

Der Thrombokinasebildungstest wurde in der beschriebenen Weise ohne Trasylolzusatz sowie mit Trasylolkonzentrationen von 1.125 - 4.500 KIE/ml Inkubationsgemisch (vor Herstellung der $BaSO_4$-Plasma-Endverdünnung) im gleichen System je 6mal durchgeführt. Die Meßwerte der Tabelle 1 bzw. auf den Kurven der Abb. 2 - 4 entsprechen bei den Trasylol-Inkubationsgemischen bzw. trasylolhaltigen Reaktionsgemischen somit den Mittelwerten aus 6 Einzelbestimmungen, bei den Leeransätzen aus 36 Einzelbestimmungen.

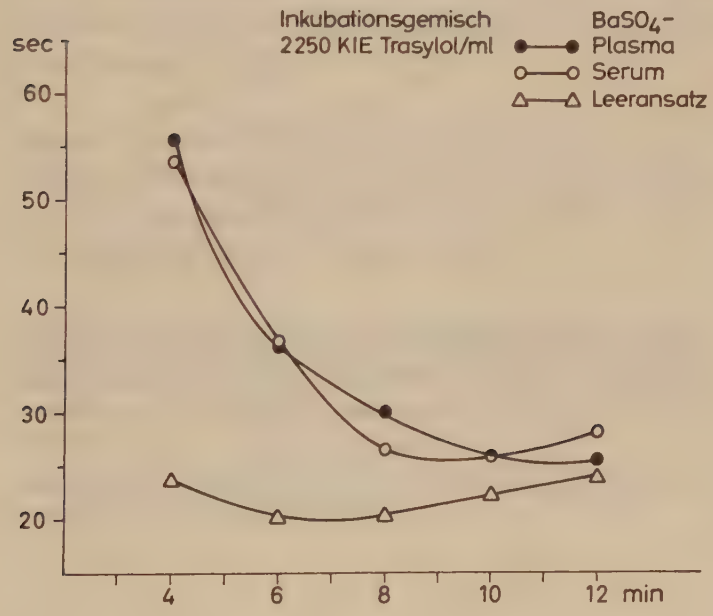


Abb. 3: Erläuterung siehe Text

Signifikante Differenzen: Leeransatz - Serum 4′ 6′ 8′

Leeransatz - Plasma 4′ 6′ 8′

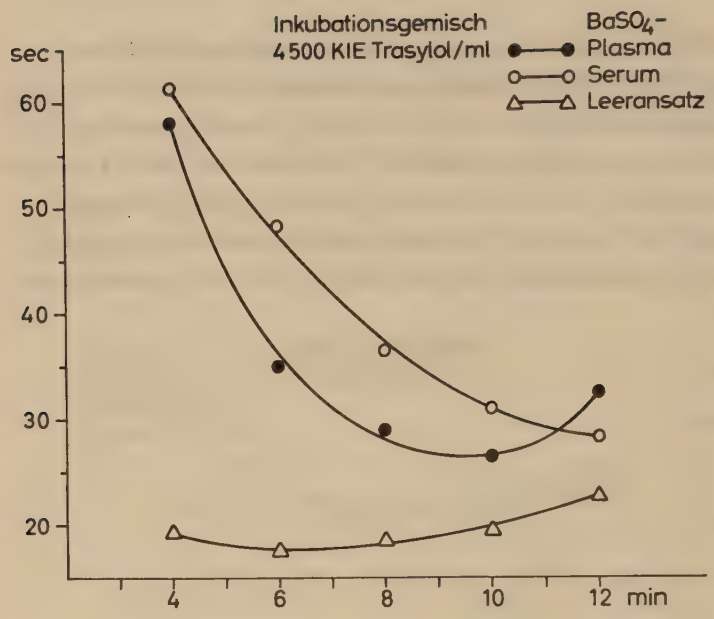


Abb. 4: Erläuterung siehe Text

Signifikante Differenzen:						
Leeransatz	-	Serum	4′	6′	8′	10′
Leeransatz	-	Plasma	4′	6′	8′	10′
Plasma	-	Serum	6′	8′		

Die Inkubation von Plasma bzw. Serum mit Trasylol führt zu konzentrationsabhängigen Veränderungen.

Bei einer Konzentration von 1.125 KIE/ml Inkubationsgemisch[+] bestehen im Vergleich zum Leeransatz keine auffälligen Veränderungen, abgesehen von den nach 4 und 6 Minuten ermittelten Gerinnungszeiten im Substratplasma, entsprechend dem Anfangsteil der Kurven in Abb. 2.

Bei 2.250 KIE/ml Inkubationsgemisch sind die Gerinnungszeiten nach 4, 6 (und 8) Minuten erheblich verlängert. Die kürzesten Reaktionszeiten werden gegenüber dem Leerversuch (hier nach 6 Minuten) vergleichsweise spät, nach 10 - 12 Minuten erreicht ("Rechtsverschiebung" in Tab. 1 sowie den Abb. 3 und 4). Die Serum- und Plasma-Inkubationskurven verhalten sich im ganzen kongruent (Abb. 3).

Bei einer Konzentration von 4.500 KIE/ml Inkubationsgemisch ergeben sich zusätzliche, auffällige Unterschiede: Nach Inkubation von Serum mit Trasylol finden sich deutlich längere Gerinnungszeiten im Substratplasma als nach Inkubation von Plasma mit Trasylol (Abb. 4).

Bei Inkubation von Chloroformhirnextrakt mit vergleichsweise niedrigen Trasylolkonzentrationen von 560 KIE/ml Inkubationsgemisch, Konzentrationen, die keinerlei Effekt auf Plasma oder Serum erkennen lassen, kommt es zu einer ganz erheblich verlangsamten und reduzierten Blutthrombokinasebildung.

Die Inkubation von Substratplasma mit 1.000 KIE Trasylol/ml Inkubationsgemisch lässt keine Auswirkung erkennen.

[+] Inkubationsgemisch bedeutet 0,2 ml Serum oder Plasma plus 1,8 ml Trasyllösung. Die methodisch erforderliche Weiterverdünnung des Plasmas (s. S. 6) erfolgt erst nach der Inkubation von 30 Minuten

Tab. 1: Thrombokinasebildungstest: Inkubationsgemische mit verschiedenen Trasylolkonzentrationen. "Rechtsverschiebung" der kürzesten Gerinnungszeiten (Sekunden, Mittelwerte) im Substratplasma

Reaktionsgemische	Reaktionsdauer Min.						Reaktionsgemisch KIE/ml
	4	6	8	10	12	14	
Leeransatz	21,9	19,3	19,9	21,2	23,3	-	0
$BaSO_4$ Plasma - 1125 KIE/ml Inkubationsgem.	32,2	24	21,7	23,2	24,8	-	140
Serum	34,2	24,0	21,8	22,9	24,7	-	281
$BaSO_4$ Plasma - 2250 KIE/ml Inkubationsgem.	55,7	36,5	30,2	26,0	25,8	28,0	281
Serum	53,7	36,8	24,7	26,0	28,3	-	562
$BaSO_4$ Plasma - 4500 KIE/ml Inkubationsgem.	58,0	35,0	29,0	26,5	30,3	-	562
Serum	61,3	48,3	36,5	31,0	28,3	32,6	1125

Tab. 2: Mittelwerte der kürztesten Gerinnungszeiten im Substratplasma. Thrombokinasebildungstest mit Standardreagenzien und Patienten - $BaSO_4$ Plasmaverdünnungen

Kollektiv	vor op. Plasmaverdünnung 1/20	1/80	postop. 3. Tag. Plasmaverdünnung 1/20	1/80	Signifikanz
Pat. ohne Trasylol Gruppe I (n = 12)	(1) 19,54 ±0,4	(2) 22,40 ±0,51	18,30 ±0,35	(3) 19,90 ±0,42	(1)/(2) p - 0,001 (2)/(3) p - 0,005 (4)/(6) p - 0,025
Pat. mit Trasylol Gruppe II + III (n = 12)	(4) 19,45 ±0,6	(5) 21,90 ±0,5	19,05 ±0,45	(6) 21,33 ±0,5	(3)/(6) p - 0,05 (4)/(5) p - 0,005 - = kleiner als

2. Beeinflussung der Blutthrombokinasebildung durch Trasylol in vivo

Getestet wurde $BaSO_4$-Plasma (Verdünnung 1:20 und 1:80) und Serum (Verdünnung 1:10 und 1:40) in den Patientengruppen I bis III. Die Ergebnisse sind in Tab. 2 zusammengefasst.

Die kürzesten präoperativ ermittelten Reaktionszeiten (Mittelwerte) waren in allen Gruppen praktisch gleich: Die Mittelwerte betrugen bei Verwendung der Plasmaausgangsverdünnung 1:20 (= 100 % Aktivität) 19,54 bzw. 19,45 Sek., bei Einsatz der Plasmaverdünnung 1:80 (entsprechend 25 % Aktivität), 22,4 bzw. 21,9 Sek.

Am 3. postoperativen Tag fanden sich die für die Plasmaausgangsverdünnung ermittelten Reaktionszeiten in allen Gruppen geringfügig verkürzt, in Gruppe I auf 18,3 Sekunden, in Gruppe II + III auf 19,5 Sekunden.

Die bei Verwendung der Plasmaverdünnung 1:80 (25 % Aktivität) ermittelten Werte differierten in Gruppe I und Gruppe II + III. In Gruppe I liegen sie mit 19,9 Sekunden beträchtlich unter den präoperativ bestimmten (22,4 Sekunden); sie erreichen nahezu die präoperativ für die Ausgangsverdünnung (!) ermittelten Werte. In Gruppe II + III liegen die präoperativ gemessenen Werte mit 21,3 Sekunden im Mittel nur unwesentlich unter den korrespondierenden präoperativen Werten, nämlich 21,9 Sekunden.

Die Testung der Serumverdünnung ergab in der Gruppe I bzw. II + III ein gleichsinniges Verhalten; aus äußeren Gründen konnte ein Teil der Seren nicht mehr verwendet werden, so daß diese Ergebnisse hier im einzelnen nicht dargestellt werden.

C Diskussion

Die Inkubationsversuche (Tab. 1, Abb. 2 - 4) zeigen bei einer Trasylolkonzentration von 1.125 KIE/ml Inkubationsgemisch keinen eindeutigen Inkubationseffekt. Alle drei Kurven (Abb. 2) liegen im gleichen Bereich.

Bei einer Konzentration von 2.250 KIE/ml Inkubationsgemisch sind die Gerinnungszeiten im Substratplasma durchweg länger als im Leerversuch (Abb. 3): Die Ausbeute an sog. Blutthrombokinase (= Prothrombinumwandlungs)-Aktivität ist geringer.

Die kürzesten Gerinnungszeiten werden später erreicht (Rechtsverschiebung in Tab. 1 sowie den Kurven der Abb. 3 und 4): Die Bildung der Blutthrombokinase erfolgt langsamer. Der Trasyloleffekt auf Plasma und Serum läßt im übrigen keine sicheren Unterschiede erkennen.

Bei einer Konzentration von 4.500 KIE/ml im Inkubationsgemisch sind diese Verhältnisse im ganzen ausgeprägter (Abb. 4), wobei das Serum stärker betroffen erscheint: Sowohl hinsichtlich der Verlängerung der Gerinnungszeiten als auch hinsichtlich des verspäteten Eintritts der kürzesten Gerinnungszeit. Man kann in diesem Konzentrationsbereich von einem (auf das Serum) gerichteten Trasylolinkubationseffekt sprechen. Die Konzentration von 4.500 KIE/ml im Inkubationsgemisch entspricht einer in-vivo-Konzentration von annähernd 15 Mill. KIE; die Konzentration im Reaktionsgemisch immer noch einer in-vivo-Konzentration von 2 - 4 Mill. KIE.

Somit dürften diese Befunde für die Klinik ohne praktische Bedeutung sein. Sie erlauben möglicherweise eine nähere Ortung, jedoch keine exakte Lokalisation des Trasylolhemmeffektes in der Gerinnungsvorphase bei Bildung der sog. Blutthrombokinase.

Es ist hier zu berücksichtigen, daß die verwendete Methode bezüglich der Faktor VIII- und IX-Aktivität an sich allenfalls semiquantitative Aussagen zuläßt, deren Spezifität durch die methodisch bedingte Mitverdünnung aller anderen im Plasma bzw. Serum noch enthaltenen Gerinnungsfaktoren weiter eingeschränkt wird (13, 14, 15). Immerhin glauben wir, daß unsere Befunde die Auffassung von Marx, derzufolge ein Schwerpunkt der Trasylolwirkung im Bereich der Faktor IX-Aktivierung liegt (4, 16) stützen. Von besonderer Bedeutung dürfte in diesem Zusammenhang eine Hemmung der Kontaktaktivierung (7) über eine Oberflächenaffinität des Trasylol (17) sein.

Der erheblich stärkere Inkubationseffekt von Trasylol auf Chloroformhirnextrakt als auf Serum oder Plasma könnte mit dieser Oberflächenaktivität zusammenhängen, für ihre Bedeutung sprechen (28).

Unsere in-vivo-Befunde (Tab. 2) lassen eine erhebliche Steigerung der Faktor VIII-Aktivität im postoperativen Verlauf erkennen, wobei auch hier die oben gemachte Einschränkung gilt. Die postoperativ wiederholt beobachtete - allerdings nur geringfügige - Verkürzung der Gerinnungszeit im Substratplasma (28) ließ eine Steigerung der Aktivität bestimmter Faktoren vermuten. Um diese im Rahmen der gewählten Methode besser darzustellen, wurde der Thrombokinasebildungstest auch mit höheren Plasma- und Serum-Verdünnungen (1:80 bzw. 1:40) durchgeführt.

Die postoperativ aufgetretene Verkürzung der Gerinnungszeiten in Gruppe I (Tab. 2) auf Werte, die trotz einer Plasmaverdünnung von 1:80 den präoperativ mit der Ausgangsverdünnung (1:20) ermittelten entsprechen, lassen an eine Steigerung aller in diesen Komplex eingehenden Aktivitäten auf eine Größenordnung um 200 - 300 % Aktivität denken. Die Signifikanzberechnung in Tab. 2 zeigt, daß diese Unterschiede ge-

sichert sind. Die Beobachtung wird durch Befunde mit offenbar spezifischer Methode (18) [+] bestätigt.

Auffällig war das Ausbleiben dieser Aktivitätszunahme bei den Patienten der Gruppen II und III, denen in anderem Zusammenhang (19) prä- und postoperativ Trasylol verabreicht worden war. Da mit den aufgrund des angewandten Dosierungsschemas (s. S. 8) hier in vivo erzielten Trasylolkonzentrationen eine direkte Hemmung der Blutthrombokinasebildung im Bereich des Faktor VIII in vitro nicht beobachtet werden konnte, ist eher an einen indirekten Trasyloleffekt zu denken.

Sollte eine Beziehung zwischen dem postoperativen Kreislaufverhalten insbesondere der ausgeprägten Zirkulationsverlangsamung im Bereich der unteren Extremität (20, 21) und einer potentiell gesteigerten Gerinnungsneigung - im speziellen dem Anstieg der Faktor VIII-Aktivität bestehen, wäre denkbar, daß der Proteinaseninhibitor Trasylol hier über eine Besserung der Kreislaufverhältnisse - etwa eine Stabilisierung des Blutdrucks (3) - wirkt.

Die Förderung des venösen Rückflusses durch Trasylol (22) sowie das Ausbleiben einer Aktivitätszunahme des Faktor VIII bei den mit Trasylol behandelten Patienten (23) [++] legt die Annahme einer ursächlichen Bedeutung der Kreislaufwirkung für diesen antithromboplastischen Effekt des Trasylol nahe.

So zeigen die Vorstellungen über die latente Gerinnung (24, 25, 26), daß mit abnehmender Zirkulation in der Zeiteinheit weniger gerinnungsaktive Stoffwechselprodukte aus dem Kreislauf eliminiert werden, mit anderen Worten, Hypozirkulation entspricht zumindest potentiell einer Hyperkoagulabilität. Umgekehrt wird durch eine Förderung der Zirkulation in der Zeit-

[+] und [++] Diese Untersuchungen waren bei Abschluß der eigenen hier dargestellten Arbeiten nicht bekannt und nicht veröffentlicht.

einheit mehr an gerinnungsaktiven Stoffwechselprodukten aus der Zirkulation entnommen.

Es wäre somit durchaus denkbar, daß der Anstieg der Faktor VIII-Aktivität bzw. -Konzentration Folge einer Zirkulationsverlangsamung ist, zumal die Aktivitätszunahme des Faktor VIII mit der Periode der erfahrungsgemäß besonders starken Zirkulationsverlangsamung zusammenfällt. Daß zwischen dem postoperativ regelmäßig zu beobachtenden Fibrinogenanstieg und dem von Dürr (19) in diesem Zusammenhang beschriebenen Trasyloleffekt (Abb.5) einerseits und unseren Beobachtungen ein Zusammenhang besteht, scheint nicht ausgeschlossen.

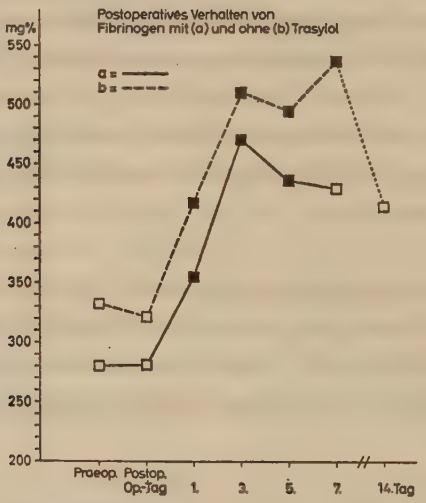


Abb. 5: Fibrinogenwerte bei unbehandelten und mit Trasylol behandelten Patienten. Unter Trasylolbehandlung ist der Fibrinogenanstieg (statistisch signifikant) weniger ausgeprägt. Die Normalisierung erfolgt früher.

Die antithromboplastische Wirkung des Trasylol muß in Würdigung neuerer Befunde (23, 27) somit wesentlich auch unter Kreislaufaspekten diskutiert werden.

III ZUSAMMENFASSUNG

Trasylol beeinflusst in vitro konzentrationsabhängig die Blutthrombokinase: Die Bildung wird verlangsamt, die Aktivität reduziert.

Dieser Hemmeffekt tritt in der gewählten Versuchsanordnung bei Konzentrationen von 2.250 KIE/ml Inkubationsgemisch auf. In hoher Konzentration scheint Trasylol einen auf serumständige Aktivitäten gerichteten Effekt auszuüben.

Die postoperativ auftretende Steigerung der Faktor VIII-Aktivität ist bei trasylolbehandelten Patienten nicht zu beobachten. Dieser antithromboplastische Effekt in vivo dürfte wesentlich mit auf einer Zirkulationsförderung durch Trasylol beruhen.

IV LITERATUR

1) Matis, P. u. F. K. Mörl: Ann. N. Y. Acad. Sci. 146:715 (1968)

2) Haberland, G. L. u. P. Matis: Med.Welt 18 (N.F.):1367 (1967)

3) Mörl, F. K.: Klinik der Proteinaseninhibitoren in der Chirurgie. F. K. Schattauer, Stuttgart 1968

4) Blombäck, B., M. Blombäck u. P. Olsson: in (29), S. 33

5) Nordström, S., P. Olsson u. M. Blombäck: Nature (London) 206:632 (1965)

6) Amris, C. J.: Scand. J. haem. 3:19 (1966)

7) Herschlein, H. J. u. D. F. Steichele: Med. Welt 16 (N.F.):1314 (1964)

8) Marx, R., P. Clemente, E. Werle u. E. Appel: Blut V:367 (1959)

9) Marx, R.: in (30), S. 89 ff.

10) Benzer, H. G. Blümel u. F. Piza: Wien. klin. Wschr. 1960:609

11) Hiepler, E.: Einführung in die Methodik der Blutgerinnungsbestimmung, Laborarztverlag Würzburg, sowie Einführung in die Methodik der Blutgerinnungsbestimmung, hersg.v. Dt.Hoffmann-La Roche AG, Grenzach/Baden

12) Jürgens, J. u. F. K. Beller: Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalysen. G. Thieme, Stuttgart 1958

13) Duckert, F., P. Flückiger, H. Isenschmid, M. Matter, J. Vogel-Meng u. F. Koller: Acta haemat. 12:197 (1954)

14) Biggs, R., A. S. Douglas u. R. G. MacFarlane: J. Physiol. 119:89 (1953)

15) Egli, H.: Über die Bildung von Blutthrombokinase. Habilitationsschrift, Bonn 1959

16) Werle, E., R. Marx, I. Trautschold u. K. E. Reichenbach-Klinke: zit. nach (9)

17) Athanossopoulos, S.: Dissertation, Tübingen 1969

18) Wülfing, D., H. Egli u. H. Kalinke: Langenb. Arch. klin. Chir. 323:32 (1968)

19) Dürr, W.: Dissertation, Tübingen 1969

20) Naegeli, Th. u. P. Matis: Die thromboembolische Krankheit. Erg. Chir. 38 : 1 (1953) sowie in: Nageli, Th., P. Matis, R. Gross, H. Runge u. H. W. Sachs: Kurzes Handbuch der thromboembolischen Erkrankungen, 2. Aufl. F. K. Schattauer, Stuttgart 1960, S. 261 u. S. 788

21) Friman-Dahl, J.: Acta chir. scand. Suppl. 1935, 36

22) Pauschinger, P., P. Matis u. H. Rieckert: in (31) S. 81

23) Haberland, G. L., P. Matis, P. Pauschinger, H. A. Thies u. H. Vinazzer: Med. Welt 20 (N.F.):1270 (1969)

24) Spaeth, E. H., H. J. Horrowitz, D. Zucker-Franklin, J. Cintron u. J. J. Biesinski: Blood 17:196 (1961)

25) Lee, R.: J. Exp. Med. 115:1065 (1962)

26) Lasch, H. G.: in Verhandl. Dt.Ges.f.Kreislaufforsch., 29. Tagung, S. 41 - 50

27) Moll, B.: Dissertation, Tübingen 1969

28) Matis, P.: unveröffentl. Untersuchung, persönl. Mitteilung

29) Gross, R. u. G. Kroneberg (Hrsg.): Neue Aspekte der Trasylol Therapie, Bd. 1. F. K. Schattauer, Stuttgart 1966

30) Marx, R., H. Imdahl u. G. L. Haberland (Hrsg.): Neue Aspekte der Trasylol Therapie, Bd. 2. F. K. Schattauer, Stuttgart 1968

31) Haberland, G. L. u. P. Matis (Hrsg): Neue Aspekte der Trasylol Therapie, Bd. 3. F. K. Schattauer, Stuttgart 1969

Herrn Professor Dr. P. Matis bin ich für Überlassung des Themas sowie Hinweise bei Durchführung und Abfassung der Arbeit zu besonderem Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Am 24. Mai 1942 wurde ich, Gerda Jehner, geb. Hinkel, als dritte Tochter des Kaufmanns Otto Hinkel und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Hinkel, geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule von 1949 bis 1953 in Bad Vilbel besuchte ich zunächst bis 1956 das Ziehen-Realgymnasium in Frankfurt und anschließend die Schillerschule, Gymnasium in Friedberg, Hessen; Reifezeugnis 1962.

Vom Sommersemester 1962 bis zum Sommersemester 1963 studierte ich an der Universität in Frankfurt, vom Wintersemester 1963/64 bis zum Wintersemester 1966/67 an der Universität in Tübingen, anschließend bis zum Wintersemester 1968/69 wieder an der Universität in Frankfurt Medizin. Im Frühjahr 1969 legte ich das Medizinische Staatsexamen ab.

Mit den hier vorgelegten Untersuchungen begann ich nach längeren Vorversuchen im Sommer 1966 und beendete den experimentellen Teil im Frühjahr 1967.